

BD GC-Lect Agar

SIHTOTSTARVE

BD GC-Lect Agar on selektiivne sööde, mis võimaldab bakter *Neisseria gonorrhoeae* paremat kasvu ja väljakülvi ning kontamineerivate bakterite ja seente, sh *Capnocytophaga* liikide paremat inhibitsiooni suuõõne-neeluproovides.

PROTSEDUURI PÕHIMÕTTED JA SELGITUS

Mikrobioloogiline meetod.

Patogeense *Neisseria* isoleerimiseks segafloorat sisaldavatest proovidest (Thayer-Martin Selective Agar, Modified Thayer-Martin (MTM) Agar, Martin-Lewis Agar) on välja töötatud järjestiksöötmed.¹⁻³ Igaüks neist võimaldab kontamineerivate organismide paremat inhibitsiooni kui eelnev koostis, kuid igaüks on (erineval määral) inhibitoorne teatud tüvedele, mis on mõeldud väljakülvamiseks.^{4,5}

BD Diagnostic Systems töötas šokolaadiagari parandatud alusena välja GC II Agar Base'i, mida neis selektiivsetes söötmetes kasutatakse. Patogeense *Neisseria* puhul saavutatud tugev kasvuergutus võimaldas ka *Capnocytophaga* tüvede kasvu selektiivsel söötmel, kui inokuleerimine toimus suuõõne-neeluproovidega.

GC-Lect Agari töötas välja ja patenteeris BD Diagnostic Systems. Selle eesmärk on pakkuda *Capnocytophaga* liikide ja muude MTM-agaris sisalduvate inhibiitoritele resistentsete tüvede (nt vankomütsiinile resistentset kontaminandid, sh *Staphylococcus epidermidis*'e teatud tüved) täiendavaks inhibeerimiseks.^{6,7} Selles söötmes on sellele antibiootikumile tundlike *N.*

gonorrhoeae tüvede parema väljakülvi tagamiseks vankomütsiini väiksem kontsentratsioon.

Nagu MTM-i puhul, ei inhibeeri *N. lactamica*'t ka GC-Lect Agar.

BD GC-Lect Agar sisaldab GC II agari alust, mis pakub lämmastiktoitaineid kaseiini ja lihapeptonide kujul, fosfaadipuhvrit pH säilitamiseks ning maisitärklist, mis neutraliseerib agaris esineda võivad toksilised rasvhapped. Veisehemoglobiini pakub X-faktorit (hemiini).

BD IsoVitaleX Enrichment (IsoVitaleXi rikasti) on määratletud lisand, mis annab vitamiine, aminohappeid, koensüüme, glükoosi, rauaioone ja muid tegureid, mis parandavad patogeense *Neisseria* kasvu. Selektiivsuse parandamiseks töötas BD Diagnostic Systems välja kombinatsiooni viiest antimikroobsest toimeainest grampositiivsete ja gramnegatiivsete bakterite ning seente inhibeerimiseks. Need antimikroobid pole inhibitoorsed vankomütsiinitundlikele gonokokkidele, mis inhibeeritakse standardsel MTM-agaril.⁷

REAKTIIVID

BD GC-Lect Agar

Valem* liitri puhastatud vee kohta

Pankrease ensüümidega töödeldud kaseiin	7,5 g
Valitud lihapepton	7,5
Maisitärklis	1,0
Dikaaliumfosfaat	4,0
Monokaaliumfosfaat	1,0
Naatriumkloriid	5,0
Agar	12,0
Hemoglobiin	10,0
Selektiivsed toimeained	0,017
BD IsoVitaleX Enrichment	10,0 mL
pH 7,2 +/- 0,2	

*Vajaduse korral kohandatud ja/või täiendatud toimingu kriteeriumide järgi.

BD IsoVitaleX Enrichment sisaldab järgmisi kasvutegureid (koostis* liitri puhastatud vee kohta):

Vitamiin B ₁₂	0,01 g	Tiamiinpürofosfaat	0,1 g
L-glutamiin	10,0	Raudnitraat	0,02
Adeniin	1,0	Tiamiinhüdrokloriid	0,003
Guaniinhüdrokloriid	0,03	Tsüsteinhüdrokloriid	25,9
p-aminobensoehape	0,013	L-tsüstiin	1,1
Nikotiinamiidadeniindinukleotiid (NAD)	0,25	Glükoos	100,0

*Vajaduse korral kohandatud ja/või täiendatud toimingute kriteeriumide järgi.

ETTEVAATUSABINÕUD

IVD . Ainult professionaalseks kasutamiseks. Ⓢ

Ärge kasutage plaate, kui neil on näha mikrobiaalse saastumise, värvimuutuse, kuivamise, mõranemise ilminguid või teisi riknemise tunnuseid.

Teavet aseptiliste käsitlemisprotseduuride, bioriskide ja kasutatud toote realiseerimise kohta vaadake dokumendist **ÜLDISED KASUTUSJUHISED**.

SÄILITAMINE JA KÕLBLIKUSAEG

Vastuvõtmisel säilitage söötmeplaate pimedas temperatuuril 2 kuni 8 °C originaalpakendis kuni vahetu kasutamiseni. Vältige külmumist ja ülekuumenemist. Söötmeplaate võib inokuleerida kuni aegumiskuupäevani (vaadake pakendi silti) ja inkubeerida soovitatavate inkubatsiooniaegade jooksul.

Söötmeplaate avatud 10 plaadiga virnast võib kasutada ühe nädala jooksul, kui neid hoida puhtas kohas temperatuuril 2 kuni 8 °C.

KASUTAJA TEHTAV KVALITEEDIKONTROLL

Inokuleerige tüüproove järgmiste tüvedega (üksikasju vaadake dokumendist **ÜLDISED KASUTUSJUHISED**). Inkubeerige 24–48 tundi temperatuuril 35–37 °C süsinikdioksiidiga rikastatud aeroobses keskkonnas.

Tüved	Kasvu tulemused
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 43069	Kasv
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 51109	Kasv
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090	Kasv
<i>Neisseria sicca</i> ATCC 9913	Osaline kuni täielik inhibitsioon
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Täielik inhibitsioon
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Osaline kuni täielik inhibitsioon
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Täielik inhibitsioon
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Osaline kuni täielik inhibitsioon
<i>Capnocytophaga ochracea</i> DSM 7272	Täielik inhibitsioon

PROTSEDUUR

Komplekti kuuluvad materjalid

BD GC-Lect Agar (90 mm **Stackeri** plaadid). Mikrobioloogiliselt kontrollitud.

Komplekti mittekuuluvad materjalid

Abistav kultuursööde, nõutavad reaktiivid ja laborivarustus.

Proovide tüübid

See on selektiivne söode patogeensetele *Neisseria* liikidele, eriti *Neisseria gonorrhoeae* isoleerimiseks ja seda saab kasutada igat tüüpi proovide puhul. Sagedased proovid hõlmavad tampoone urogenitaaltraktist, pärakust ja suuneelust (vt ka jaotist **LÄBIVIIMISE**

ISELOOMUSTUS JA PROTSEDUURI PIIRANGUD).⁸⁻¹⁰ Seda söodet võib kasutada ka *Neisseria meningitidis*'e tuvastamiseks normaalfloorat sisaldavatest proovidest (nt bakteriaalse

meningiidi puhangute epidemioloogilises uuringus nakkuskandjate ninatampoonidelt). Seda tuleb kasutada ainsa esmase isolatsioonisöötmena *N. meningitidis*'e tserebrospinaalvedelikust, kuid võib kasutada täiendava isolatsioonisöötmena.

PROOVIDE KOGUMINE JA TRANSPORT

Neisseria gonorrhoeae ja *N. meningitidis* on väga tundlikud ebasoodsatele keskkonnatingimustele. Seetõttu tuleb kõigi proovide puhul, milles kahtlustatakse patogeense *Neisseria* olemasolu, kasutada sobivat transpordisöödet. Proovid tuleb saata laborisse nii kiiresti kui võimalik ja need ei tohi olla vanemad kui 24 tundi ka transpordisöötme kasutamise korral. Optimaalne transporditemperatuur on 20 – 25 °C. Mitte külmutada! ⁸⁻¹⁰

Katse protseduur

Külvake proov võimalikult kiiresti pärast laborisse saabumist **BD GC-Lecti agarile**. Esmalt toimub külviplaadil segafloorat sisaldavast materjalist puhaskultuuri isoleerimine. Kui materjal kultiveeritakse otse tampoonilt, rullige tampooni õrnalt üle väikese ala söötme pinna serval, seejärel külvake isoleerimiseks viirgudena sellest inokuleeritud alast eemale. Mitteselektiivse šoklaadiagari plaadi (nt **BD Chocolate Agar (GC agar IsoVitaleXiga)**) võib kõigi proovidega, mille puhul eeldatakse *N. gonorrhoeae* sisaldumist, samuti inokuleerida, et anda viiteid muudest infektsiooni kaasatud patogeenidest, ning see tuleb kaasata *N. meningitidis*'e tuvastamiseks tserebrospinaalvedelikust. Peale selle tuleb kaasata ka aeroobse kultuuri tavapärane sööde, kui peetakse vajalikuks muude patogeenide tuvastamist. Inkubeerige inokuleeritud söödet 5 – 10% süsinikdioksiidiga rikastatud aeroobses keskkonnas temperatuuril 35 ± 2°C 42–48 tundi või vajaduse korral kauem. Uurige plaate pärast 18 – 24- ja 42 – 48-tunnist inkubatsiooni. Pidage meeles, et *Neisseria gonorrhoeae* puhul võib mõnikord kuluda kuni 72 tundi, enne kui nähtavad kolooniad ilmuvad.

Tulemused

Tüüpiline kolooniamorfoloogia **BD GC-Lecti agaril** ja **BD Chocolate Agar (GC agar IsoVitaleXiga)** on järgmine.

Neisseria gonorrhoeae: väikesed hallikasvalged kuni värvitud, võivad olla mukoidsed.

Neisseria meningitidis: keskmised kuni suured, sinakashallid, võivad olla mukoidsed. Tüüpiliste kolooniate oletuslikuks tuvastamiseks võib kasutada Grami järgi värvimist ja oksüdaastesti. ^{9,10} Isolaatide täielikuks tuvastamiseks tuleb teha biokeemilisi või immunoloogilisi lisateste.

LÄBIVIIMISE ISELOOMUSTUS JA PROTSEDUURI PIIRANGUD

BD GC-Lecti agarit kasutatakse *Neisseria gonorrhoeae* isoleerimiseks. Söödet võib kasutada ka *N. meningitidis*'e isoleerimiseks normaalfloorat sisaldavatest proovidest, nt bakteriaalse meningiidi puhangute epidemioloogilises uuringus nakkuskandjate ninatampoonidelt.

SPETSIIFILISED RESULTATIIVSUSE KARAKTERISTIKUD

500 proovi resultatiivsuse hindamisel ilmnes *N. gonorrhoeae* nähtav kasv 24 tunni jooksul **BD GC-Lecti agaril** 72 positiivse kultuuri puhul, võrdlussöötmel (MTM-agaril) ainult 52 positiivse kultuuri puhul. ⁷ GC-Lecti agariga saadi kokku 50 positiivset kultuuri, MTM-iga 49. **BD GC-Lecti agari** selektiivsus ületas 24-tunnise inkubatsiooni järel normaalfloora kasvu tekitava 19 kultuuriga MTM-i, mille puhul oli vastav näitaja 78. Selektiivsus paranes eriti **BD GC-Lecti agaril** pärmseente (2 versus 30 kultuuri) ja grampositiivsete kokkide (5 versus 31 kultuuri) suhtes.

Protседuuri piirangud

Proovist kõigi organismide potentsiaalse olulisuse tuvastamiseks piisab harva ühest söötimest. Selektiivsel söötmel kultiveeritud proove tuleb seetõttu kultiveerida ka mitteselektiivsel söötmel, et saada täiendavat teavet ja aidata tagada potentsiaalsete patogeenide väljakulvi. **BD Chocolate Agar (GC agar IsoVitaleXiga)** on rikastatud sööde, millel soovimatud või mittepatoogeensed bakterid võivad patogeensetest bakteritest üle kasvada. *Neisseria lactamica*'t, mis on üks saprofüütilistest liikidest, GC-Lecti agaril ei inhibeerida.

VIITED

1. Thayer, J.D., and J.E. Martin, Jr. 1966. Improved medium selective for cultivation of *N. gonorrhoeae* and *N. meningitidis*. Public Health Rep. 81:559-562.
2. Martin, J.E., J.H. Armstrong, and P.B. Smith. 1974. New system for cultivation of *Neisseria gonorrhoeae*. Appl. Microbiol. 27:802-805.
3. Martin, J.E., Jr., and J.S. Lewis. 1977. Anisomycin: improved antimycotic activity in modified Thayer- Martin medium. Public Health Lab. 35:53-62.
4. Cross, R.C., M.B. Hoger, R. Neibaur, B. Pasternack, and F.J. Brady. 1971. VCN-inhibited strains of *Neisseria gonorrhoeae*. HSMHA Health Rep. 86:990-992.
5. Phillips, I., D. Humphrey, A. Middleton, and C.S. Nicol. 1972. Diagnosis of gonorrhea by culture on a selective medium containing vancomycin, colistin, nystatin, and trimethoprim (VCNT). A comparison with gram-staining and immunofluorescence. Brit. J. Vener. Dis. 48:287-292.
6. Reichart, C.A., L.M. Rupkey, W.E. Brady, and E.W. Hook III. 1989. Comparison of GC-Lect and modified Thayer-Martin media for isolation of *Neisseria gonorrhoeae*. J. Clin. Microbiol. 27:808-811.
7. Evans, G.L., D.L. Kopyta, and K. Crouse. 1989. New selective medium for the isolation of *Neisseria gonorrhoeae*. J. Clin. Microbiol. 27:2471-2474.
8. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Isenberg, H.D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Janda, W.M., and J.S. Knapp. 2003. *Neisseria* and *Moraxella catarrhalis*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

PAKKIMISVIIS/KÄTTESAADAVUS

BD GC-Lect Agar

Kat nr 254554 Kasutusvalmis plaatidel sööde, PMÜ 20
Kat nr 254555 Kasutusvalmis plaatidel sööde, PMÜ 120

LISATEAVE

Lisateabe saamiseks võtke ühendust BD kohaliku esindajaga.



Becton Dickinson GmbH
Tullastrasse 8 – 12
D-69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>
<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC on ettevõtte American Type Culture Collection kaubamärk.
BD, BD logo ja kõik muud kaubamärgid kuuluvad ettevõttele Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD